ANALYSE DER WECHSELBEZIEHUNG DER PROGNOSTISCHEN FAKTOREN BEI DER KINDLICHEN ALL UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER DAP IV–REAKTIONEN

IKA PELEG

Diss. Frankfurt am Main
1983

Aus dem Zentrum der Kinderheilkunde der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Analyse der Wechselbeziehungen der prognostischen Faktoren bei der kindlichen ALL unter besonderer Berücksichtigung der DAP IV-Reaktionen

Inaugural Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Ika Peleg
aus Tel-Aviv

Frankfurt am Main 1983

Dekan : Professor Dr. H.J. Müller

Referent : Professor Dr. B. Kornhuber

Korreferent : Professor Dr. P. Chandra

Mündliche Prüfung 15.11.83

Inhaltsverzeichnis

		Seite:
1.	Einleitung	1
1.1	Klinische Relevanz der prognostischen Faktoren	1
1.2	Methoden der Differenzierung der ALL und ihre prognostischen Konsequenzen	3
1.2.1	Klinische und hämatologische Parameter	3
1.2.2	Zytomorphologische Klassifikation	5
1.2.3	Immunologische Techniken	8
1.2.4	Zytochemische Reaktionen	10
1.3	Folgerungen	13
2.	Material und Methoden	14
2.1	Die BFM-Studie	14
2.2	Die DAP IV-Reaktion	16
2.3	Versuchsablauf	16
2.4	Statistischen Methoden	18
3.	Ergebnisse	18
3.1	Interrelation untersuchter prognostischer Faktoren	18
3.1.1	Die PAS-Reaktion	19
3.1.2	Der Wahrscheinlichkeitsfaktor der T-ALL	19
3.1.3	Die AcP-Reaktion	20
3.1.4	Die DAP IV-Reaktion	20
3.2	Interkorrelation klinischer und hämatologischer Parameter	21
3.3	Verteilung der Risikofaktoren in den prognostischen Gruppen gemäß der RI und RF-Klassifikation	21
3.4	Korrelation zwischen den RI und RF-Faktoren	23
4.	Diskussion	24
5.	Nachtrag: Laborjournal	28
6.	Tabellen	31
7.	Zusammenfassung	45
8.	Literatur	46

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523705_0030

1. EINLEITUNG

1.1 klinische Relevanz der prognostischen Faktoren

Der Durchbruch in der Leukämiebehandlung begann im November 1947 mit der Einführung von Aminopterin, einem Folsäureantagonisten, durch Dr. Sidney Faber und seine Mitarbeiter am Children Cancer Research Foundation, um temporäre Remission bei 10 von 16 Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) zu induzieren.[1] Diese Remissionen waren die ersten, die überhaupt durch eine Therapie erzielt wurden.

Heutige Behandlungspläne, bestehend aus effektiverer Polychemotherapie, prophylaktischer ZNS-Behandlung, verstärkt durch intensive Unterstützungsprogramme, erzielen eine Remissionsquote von über 85 %. 40-60 % der betroffenen Kinder verbleiben 5 Jahre und länger in anhaltender Erstremission (CCR) und könnten möglicherweise als geheilt betrachtet werden.[2-5]

Trotz dieser Erfolge lassen die gegenwärtigen chemotherapeutischen Konzepte viel zu wünschen übrig: ihre Grundlage ist weitgehend empirisch, die Wirkung unspezifisch auf maligne Zellen und physiologische Vorstufen der Lymphozytopoese, und sie können in ein bis zwei drittel der behandelten Kinder einen Rezidivbefall nicht verhindern. Mit längerwährendem CCR häufen sich die Berichte über latente Nachwirkungen antileukämischer Therapie. Diese Nebenwirkungen sind Spätfolgen der Medikamente, der kraniospinalen Bestrahlung, und möglicherweise indzuierte oder genetisch

bedingte Funktionsstörungen des Immunsystems. Bei einigen Kindern beeinträchtigt die aggressive Radiochemotherapie Wachstum, Entwicklung, endokrine und reproduktive Funktionen.[6-10] Intrathekal applizierte Medikamente und ZNS-Bestrahlung können zu Gehirnatrophie, Mikroangiopathie, ventrikulärer Dilatation, Störung der intellektuellen Entwicklung und anderer neurologischer und neuropsychologischer Komplikationen führen, besonders beim Kleinkind.[11-19] Es mehren sich auch Hinweise, daß Patienten im CCR ein erhöhtes Risiko tragen, an einer weiteren Neoplasie zu erkranken.[20-27] Dies wiederum könnte therapiebedingt sein oder die Manifestation der Beeinträchtigung der host-surveillance Mechanismen sein, die die Entstehung multipler Malignome oder Autoimmunkrankheiten ermöglicht. Lymphotoxisch und steroidinduzierte langzeitige Immunsuppression erhöht das Risiko opportunistischer Infektionen, die zum Teil so schwer verlaufen, daß die infektionsbedingte Mortalitätsrate während der ersten zwei CCR Jahre fast an die des leukämischen Rezidiv herankommt.[23-34]

Obwohl die Risiko-Nutzen-Relation überdeutlich zu Gunsten der Therapie ausfällt, ist es zunehmend wichtiger geworden, vorangegangene Studien retrospektiv nach Kriterien zu untersuchen, die schon bei der Diagnose Hinweise auf den weiteren Krankheitsverlauf zulassen. Hauptziel wäre es, prätherapeutische, klinische und biologische Faktoren zu identifizieren, die Patientengruppen mit hoher Rezidivquote charakterisieren. Es ist möglich, daß diese Kinder Untergruppen der Entität ALL darstellen, die biologisch distinkt sind und als soche anderer therapeutischer Strategien be-

dürfen. Für Patienten deren prätherapeutische Befunde mit günstiger Prognose assoziiert werden, könnte ein weniger intensives aber ausreichendes Behandlungsprotokoll entworfen werden, das die potentiellen Nebenwirkungen reduziert, ohne die Effektivität und die Erfolgsaussichten der Therapie zu vermindern.
Moderne Behandlungspläne sehen eine Stratifizierung der Patienten bei der Diagnosestellung vor und eine Modifikation der Behandlung nach den im Einzellfall erkennbaren prognostischen Risikofaktoren.

1.2 Methoden der Differenzierung der ALL und ihre prognostische Konsequenz

1.2.1 Klinische und haematologische Parameter

Mehrere klinische und hämatologische Variablen der ALL-Patienten bei Diagnosestellung wurden auf prognostische Signifikanz untersucht. Prätherapeutische Leukozytenzahl (WBC), Thrombozytenzahl, Haemoglobin, Immunglobuline, Altersspanne, Geschlecht und Ausmaß der Organinfiltration, insbesondere der Leber, Milz, Lymphknoten, Thymus und ZNS wurden mit CCR und Überlebenszeit korreliert. Das prodiktive Gewicht, die Interrelation und das Ausmaß, in dem diese Variablen unabhängig funktionieren, ist noch nicht definitiv aufgeklärt (Tabelle 9). Studien, deren Kriterien und Population homogen genug waren, um retrospektiv analysiert zu werden, waren beeinträchtigt durch niedrige Patientenzahlen, wechselnde intrastudielle Behandlungspläne oder zu lange Rekru-

tierungsperioden. Diese Einschränkungen begrenzten die Anzahl möglicher statistischer Untersuchungsmethoden und führten zu einem verfälschendem Einfluß durch den Zeitpunkt der Diagnosestellung und des benutzten Therapieprotokolls.

WBC, Altersspanne und Geschlecht scheinen die am meisten konstanten Parameter in der Multivariatanalyse zu sein (Tabelle 9). Die prädiktive Potenz dieser Variablen attenuiert jedoch mit der fortschreitenden Dauer der CCR-Periode.[4,5,35,37] Eine Reanalyse der Daten von Anmerkung 144 in Tabelle 9 nach 3 Jahren zeigt, daß Patienten in 15-24 Monate anhaltender CCR eine identische Rezidivwahrscheinlichkeit haben, unabhängig vom initialen WBC, Alter und Geschlecht. Bei Kindern jedoch, die im CCR länger als 24 Monate verbleiben, taucht das männliche Geschlecht wieder als Präditkor einer günstigen Prognose auf, auch wenn Hodenrezidive nicht berücksichtigt werden.[36]

Die Nachteile mehrerer Studien, die prognostische Faktoren analysierten, könnte sein, daß in den benutzten univariaten oder mulitvariaten Modellen die Wirkung von bestimmten Kombinationen von Variablen und ihre Abhängigkeit vom Faktor Zeit nicht berücksichtigt wurden. Auch wird die Aussagekraft einzelner prognostischer Faktoren je nach Therapieprotokoll und der Qualität des Behandlungsumfeldes varieren und dadurch die Validität der Resultate reduzieren.

1.2.2 Zytomorphologische Klassifizierung

An Schwierigkeiten der Reproduzierbarkeit von Beobachtungsergebnissen scheiterten bisher die Versuche die ALL deskriptiv nach zytomorphologischen Kriterien zu untergliedern und diese Unterklassen mit biologischen oder klinischen Chrarakteristiken zu korrelieren. Diese Tatsache ist nicht erstaunlich, da die Zellen des lymphatischen Systems morphologisch leicht verwechselt werden können, auch wenn sie nicht anaplastisch transformiert sind. Der Lymphozyt ist einzigartig in dieser Beziehung, wegen der Änderung seiner morphologischen Erscheinung nach physiologischer Stimulation oder metabolischer Aktivierung.[38]

Auf der Grundlage der vorherrschenden Morphologie, Differenzierungsgrad und Zellgröße der Blasten untergliederten Mathé und Mitarbeiter die ALL in 5 Subtypen: Prolymphoblastisch, Makrolymphoblastisch, Mikrolymphoblastisch, Prolymphozytisch und Immunoblastisch. Sie korrelierten verschiedene klinische Symptome, therapeutische Sensitivität und Prognose mit jeder dieser Untergruppen.[39-41]
Patienten mit mikroblastischer (Zellen mit einem Durchmesser 12 µm) und prolymphoblastischer ALL hatten ihren Berichten zufolge signifikant höhere Remissionsdauer und Überlebenszeit.[41,42] Versuche, diese Differenzierung nachzuvollziehen, sind überwiegend gescheitert, wobei sich vor allem die Charakterisierung der einzelnen Typen als unzureichend und zu subjektiv erwies.[43-48]
Eine mögliche Erklärung für die günstigere Prognose bei Mathés mikroblastischem Typ wäre, daß

kleine Lymphozyten sich in der ruhenden Phase Go, während größere Lymphoblasten sich im aktiven Zellzyklus befinden.[49,56] Patienten mit einem hohen Prozentsatz von Zellen in der S-Phase haben nach anderen Untersuchungen eine ungünstigere Prognose.[50]
Eine Stadieneinteilung der ALL auf der Basis von Zellgröße oder Zelloberfläche brachte jedoch sich widersprechende Resultate, obwohl die Inzidenz der Patienten mit einem Blastendurchmesser 12 µm in den verschiedenen Studien sich übereinstimmend zwischen 34-40 % bewegte.[46-48, 50-56]
Ein Vergleich von Zelldimensionsmessung mit den zytochemisch oder immunologisch charakterisierten Untergruppen ist bisher nicht in ausreichendem Maße unternommen worden.

Ein weiterer Versuch, eine allgemein reproduzierbare ALL-Klassifikation auf zytomorphologischer Grundlage zu entwickeln, wurde von der French-American-British (FAB) Arbeitsgemeinschaft unternommen.[57] Sie unterschieden zwischen drei weitgefassten Kategorien: L_1 (ca. 85 % der Fälle) bestehend aus einer homogenen Population von kleinen Zellen, L_2 (ca. 14 % der Fälle) mit erheblichen morphologischen Variationen und Heterogenität, und das seltene L_3 mit Zellen ähnlich dem Burkitt's Lymphom. Korrelationen zwischen der FAB-Klassifikation und anderer hämatologischer, zytochemischer oder histologischer Markersysteme konnten jedoch nicht gefunden werden, außer bei der L_3-Kategorie, die oft mit der proliferativen Krankheit des B-Zellsystem in Zusammenhang gebracht wird.[62-67]

Prospektive und retrospektive Studien, die jede mit eigener geringer Modifikation, die FAB-Klassifikation utilisierten, assoziierten die L_1-Morphologie mit erhöhter Remissioninduktionsrate und verlängerter CCR und Überlebenszeit.

Interessanterweise scheint, diesen Studien zufolge, eine vorwiegende L_2-Morphologie eine ungünstige Prognose auch bei Kindern vorherzusagen, die nach den Kriterien prätherapeutischen WBC und Alter, eher in niedrigem oder mittlerem Rezidivrisiko einzustufen wären.[58-61,64,65] Von allen drei Untergruppen, hat die L_3-Varietät die schlechteste Prognose.[62,63]

Die erzielte Konkordanz bei zwei verschiedenen Beobachtern in all diesen Studien überschritt nie 70 %.[59-61,65] Diese Mängel veranlaßten die FAB-Gruppe ihre Kriterien zu revidieren und ein einfacheres 'score-system' für die Typen L_1 und L_2 einzuführen, basierend auf der Kern-Plasma-Relation, Vorkommen, Prominenz und Anzahl der Kernnukleolen, Regelmäßigkeit der Nuklearmembran und Zellgröße.[66] Mit diesem System stieg die Konkordanz der sieben FAB-Beobachter von 63 % auf 84 %.

Da die FAB-Klassifikation in keinem Zusammenhang mit anderen anerkannten Risikofaktoren zu bringen ist, scheint der FAB-Subtyp ein unabhängiger prognostischer Faktor zu sein (Anm. 145 in Tabelle 9). Es wurde von Fällen berichtet, die prätherapeutisch als L_1-ALL diagnostiziert wurden und sich beim Rezidiv als L_2-ALL darstellten,[68] und daß L_2-ALL einen höheren Anteil von Zellen in der S und G_2-Phase haben.[69] Es

scheint daher, daß der L_2-Subtyp eine aggressivere Variante der Krankheit darstellen könnte.

1.2.3 Immunologische Techniken

Der immunologische Ansatz zur Klassifizierung der ALL demonstrierte die Heterogenität dieses Syndroms. Diese Heterogenität scheint auf ein Potential für leukämische Transformation und klonische Expansion hinzuweisen, die in Blasten verschiedener Stadien im Verlauf der lymphatischen Differentiation vorkommen können (Tabelle 14).

Mehrere Heteroantiseren mit der Fähigkeit des Nachweises verschiedener Oberflächenantigene, diverse Makromoleküle und andere Membraneingenschaften physiologischer und maligner lymphoider Zellen wurden von verschiedenen Labors entwickelt. Diskrete Differentiationsmuster können auch durch diese Methoden identifiziert werden. Die unterschiedlichen Techniken und Konsequenzen sind ausführlich in Anmerkung 70-72 dargestellt. Um jedoch diese Antiseren zu spezifizieren, müssen mehrere Absorbtionsstufen durchlaufen werden. Wegen der Verschiedenartigkeit des Immunsystems ist es unmöglich, Antiseren mit identischer Spezifität in genügender Quantität zu produzieren, was die Anwendung dieser Techniken in der klinischen Routine verhindert.
Mit der Entwicklung der monoklonalen Antikörper-Methodoglogie könnten diese Probleme überwunden werden und diese Techniken auch jenseits des experimentellen Stadiums angewandt werden.

Im klinischen Routinegebrauch wird die ALL gegenwärtig in 3 immunologische Klassen unterteilt, die jede aus mehreren Unterklassen besteht. (Tabelle 10)

Die im Kindesalter seltene B-ALL hat in den meisten Fällen eine ungewöhnliche Blastenmorphologie, ähnlich der beim Burkitt's Lymphom beobachteten, und wird als L_3 in der FAB-Nomenklatur klassifiziert.[71] Behandelt auf konventionelle ALL-Therapie hat sie eine außerordentlich schlechte Prognose, scheint aber besser auf Lymphomatherapie zu reagieren.[62,63]

E- Slg- ALL ist die größte Untergruppe (ca. 80 % der Fälle). Sie hat die günstigste Prognose und keine sie auszeichnenden klinischen Merkmale.

Ein biologisches Korrelat der T-ALL ist noch nicht klar definiert worden.

Von der E+ ALL wird im allgemeinen berichtet, daß sie vorherrschend bei Knaben mit einem Thymustumor und hoher initialer WBC vorkommt.

Ein Überblick über vergangene Studienreihen hat gezeigt, daß dieses Muster nicht signifikant ist. (Tabelle 11)

Unterschiede in der Studienplanung und Methodologie, wie die Heterogenität dieser Untergruppe, können für die divergenten Resultate in Tabelle 11 verantwortlich sein.

Die Kriterien der Definition einer T-ALL durch den E-Rosetten-Test, die Präparation und Vorbehandlung der rosettenbildenden Erythrozyten ist nicht klar standardisiert worden.

Obwohl die Mehrzahl der T-ALL Fälle mehr als 50% E+ Blasten aufweisen[93], haben verschiedene Wissenschaftler mehr oder weniger willkürlich die Bildung von verschiedenen Prozentsätzen von E+

Blasten zur Definierung der T-ALL verlangt, die zwischen 4 % und mehr als 30 % schwanken. (Tabelle 11)
Die Pediatric Oncology Group revidierte unlängst ihre Kriterien und verlangt jetzt 40 % E+ Blasten bei 4 Grad Celsius zur Definition der T-Zell Abstammung.[94]
Eine besondere Problematik könnte in der Tatsache liegen, daß in einigen Fällen nur peripheres Blut zur immunologischen Phenotypisierung herangezogen wurde.[95]
Ob die Diagnose einer T-ALL an sich eine ungünstige Prognose bedeutet, oder ob sie abhängig ist von Faktoren, wie Thymustumor, hoher initialer WBC oder männlichem Geschlecht, ist bis jetzt noch nicht endgültig bestimmt worden.[77,84,86,89,92,96,97] (Tabelle 9 und 11)
Die gegenwärtig vorherrschende Meinung ist, daß der immunologische Phenotyp der ALL-Untergruppe kein unabhängiges Korrelat der Prognose darstellt. Er ist nichtsdestoweniger verbunden mit anderen differentiationsbezogenen Merkmalen, besonders mit der Proliferationsrate und dem Ort der klonalen Expansion (Knochenmark versus Thymus). Diese üben einen kritischen Einfluß auf das Ausmaß der klonogenen Blastenpopulation aus und dem mit ihr assoziierten evolutionären Status in Bezug auf die therapieresistenten Mutanten bei Therapiebeginn.[98]

1.2.4 Zytochemische Reaktionen

Mehrere Studien wurden durchgeführt, um die Anwendbarkeit von verschiedenen zytochemischen

Reaktionen, hauptsächlich der Periodic Acid Schiff (PAS)-Reaktion und die saure Phosphatase (AcP)-Reaktion als Methoden der Unterscheidung von Untergruppen der ALL zu testen, die möglicherweise distinkte immunologische, klinische oder prognostische Charakteristik aufweisen.

Die Vorteile der zytochemischen gegenüber immunologischen Techniken sind offensichtlich. Sie sind in der Regel weniger kompliziert und anwendbar an einfachen Knochenmarksausstrichen. Damit wird eine langwierige Gradientenzentrifugation und Isolierung der Lymphoblasten vermieden.

Die Periodic Acid Schiff (PAS)-Reaktion in der Form von zytoplasmatischen Schollen weist Glykogen und verwandte Polysacchariden im Zellplasma nach.
Versuche die Anzahl positiv reagierender Blasten und das Reaktionsmuster mit Prognose, immunologischen Markern oder hämatologischen Merkmalen zu korrelieren brachten sich widersprechende Resultate.
Die Reaktion ist Berichten zufolge stark positiv bei Patienten mit non B-non T-All, bei Patienten mit einem weniger aggressiven Krankheitsverlauf und Patienten mit günstiger Prognose.
Andere Berichte jedoch bestritten jegliche prognostische oder differenzierende Bedeutung der PAS-Reaktion.
Es scheint, daß PAS-positive Blasten einen besonders therapieempfindlichen Grad der biochemischen Differentiation anzeigen.
Diese Reaktion könnte ALL-Patienten identifizieren, die beim Fehlen anderer nachteiliger Risiko-

faktoren, wie Alter oder hohen WBC länger überleben.

Starke fokale, paranukleäre, sogenannte 'dot-like' AcP-Aktivität wir heute als zuverlässiges Marker für maligne T-Zellen betrachtet. Diese Beziehung war in der Vergangenheit strittig, da in früheren Berichten die Korrelation zwischen AcP+ und E+ALL zwischen 90% und 60% variierte, während 5-30% der E-Slg- Blasten eine positive Reaktion zeigten.
Unterschiedliche Methodologie könnte zu dieser Diskrepanz geführt haben. Intensität, Hintergrund, Reaktionsmuster und der Anteil positiv reagierender Zellen variieren erheblich mit den verwendeten chemischen Kupplern und der Inkubationszeit.
Auch waren in diesen Studien die E+ Interpretationen und 'cut-off levels' für die T-Zell Aussage nicht einheitlich, was die Inzidenz der T-ALL von 16%-44% variierte.
Die AcP wird von fetalen Thymozyten erworben und durch die gesamte T-Zell Differentiation und Peripherisation hindurch beibehalten. Die AcP-Reaktion ist daher demonstrierbar vor der Entwicklung der E-Rosetten Rezeptoren (Tabelle 14).
In zwei Studien, die verschiedene Technologien und monoklonale Antikörper benutzten, sind die Autoren zu der Schlußfolgerung gelangt, daß 'dot-like' Reaktionsmuster der AcP ein Marker für die sogenannten 'wahren' T-Zellen ist.
Ferner berichten sie über eine Zunahme positiv reagierender Blasten bei den Helper/Inducer T-Zellen und bei reifen Zellen, verglichen mit

geringfügig niedrigeren Werten bei den Suppressor/ Zytotoxischen und unreifen T-Zellen.
Ob die E-AcP+ Patienten der 'high-risk' (HR)-Gruppe angehören, ist letztlich noch nicht geklärt.

1.3 Folgerungen

Zusammenfassend ist es durchaus begründet anzunehmen, daß die Prognose der ALL von noch unbekannten, grundlegenden, biologischen Faktoren abhängig ist, möglicherweise eine Funktion des Entwicklungsstadiums des lymphatischen Systems. Die schlechte Prognose ALL-Gruppe könnte dann aus relativ "unreifen" Lymphoblasten bestehen, charakterisiert durch mediastinalen und nodalen Befall, begleitet von einer großen Tumorzellmasse, die Spleno-, Hepato- und Organomegalie und hoher peripherer WBC verursacht. Die Gruppe, die aus älteren männlichen Kindern besteht, ist im wesentlichen therapierefraktiv und diese erleiden bald einen Rezidiv und scheiden aus der ursprünglichen Studienpopulation aus. Die übriggebliebenen Kinder würden dann Bestandteil der therapieempfindlichen Gruppe, die aus den unreifzelligen common-ALL bestehen, in dem Alter und Geschlecht die signifikanten Determinanten der Prognose bilden. In dieser Gruppe könnte hohe initiale WBC oder infiltrative Organomegalie vorhanden sein, sie sind aber nicht mit einer nachteiligen Prognose behaftet. Es ist durchaus denkbar, daß nach der Verminderung der Tumorzellmasse, physiologische Mechanismen die Kontrolle über die maligne

Proliferation übernehmen und diese Kinder als geheilt angesehen werden können.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Die BFM-Studie

Über die Zielsetzung, Methoden und Resultate der BFM-Studie wurde schon mehrfach berichtet.[5,130-141] In Kürze: Die BFM-Studie ist eine multizentrische Studie, bei der am Anfang 3, später dann 9 und schließlich 19 Universitäten und Stadtkrankenhäuser teilgenommen haben. Aufbauend auf die positiven Ergebnisse der intensivierten Induktionstherapie der BFM 70/76, wurde in der BFM 76/79 und der BFM 79/81 Studien mitunter die Fragestellung untersucht, ob die Prognose für Patienten durch eine dem Rezidivrisiko angepaßten Therapie zu verbessern wäre. Das Rezidivrisiko wurde bereits bei der Diagnosestellung anhand einer Kombination von Initialbefunden ermittelt (Tabelle 12). Risikopatienten wurden durch einen Risiko-Index RI$\geq$3 definiert.
Eine retrospektive Analyse der BFM 70/76-Studie zeigte, daß unter der BFM-Therapie alleine die initialen Befunde WBC, Leber- und Milzgröße unterhalb des Rippenbogens sich als prognostisch höchst signifikant erwiesen ($p<0.001$). PAS-Reaktion, Thymusbefall, Haemoglobin, Thrombozyten, Altersspanne und Geschlecht waren für die Prognose nicht von Bedeutung (Tabelle 9, Anmerkung 1). Auch ist unter dem BFM-Therapieprotokoll und der hauptsächlich auf der WBC basierenden Strati-

fikation die Wahrscheinlichkeit der CCR für E+ und E-Slg- Patienten nicht verschieden.[141]
Dieser Trend setzt sich in der gesamten Studie fort, auch wenn allein die Risikopatienten betrachtet werden. Das ist wahrscheinlich die Folge der Applikation von Cyclophosphamid und Cytarabin während der Therapie.[141.142]

Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde ein neuer Risikofaktor RF definiert, mit dessen Hilfe eine Abschätzung der initialen Leukämiezellmasse versucht wird.[12]

RF = 0.2 log (BL + 1) + 0.06 VLE + 0.04 VMI
BL = WBC/mm^3 · % Blasts
VLE = Leberlänge unterhalb des Rippenbogens in der Medioklavikularlinie /cm
VMI = Milzlänge unterhalb des Rippenbogens in der Medioklavikularlinie /cm

Dieser Risikofaktor unterteilt die Patienten in 3 Gruppen mit signifikant verschiedenem Rezidivrisiko:

1) RF<1.2 'Low risk' (LR)-Gruppe
2) RF≥1.2<1.7 'intermediate risk' (IR)-Gruppe
3) RF≥1.7 'high risk' (HR)-Gruppe

Auf dieser Grundlage basiert die Entscheidung über die Therapieintensität, bei der zur Zeit in der Rekrutierungsphase befindlichen Therapiestudie BFM 81.

2.2 Die DAP IV (EC 3.4.14.4)

Glycyl-prolyl-4-methoxy-ß-naphtylamid-Peptidase (DAP IV) wurde zuerst von Hopsu-Havu und Glenner beschrieben.[147] Loyda[148] und Grossau[149] entdeckten Enzymaktivität in mehreren gesunden menschlichen und tierischen Geweben, speziell in E+ Lymphozyten. Feller et al[150] zeigten DAP IV-Aktivität in 50% der T-Lymphozyten hämatologisch gesunder Erwachsener, und in Blasten von 5 von 15 Kindern mit AcP+ALL. Enzymaktivität ließ sich in bis zu 2 Jahre alten Ausstrichen nachweisen. Die DAP IV+ Lymphozyten zeigten ausschließlich streng fokales AcP-Aktivitätsmuster, und sollen der Helfer-Fraktion der T-Lymphozyten angehören.[150,151]

2.3 Versuchsablauf

Zwischen dem 1. April 1979 und dem 31. März 1981 wurden 39 Kinder und Jugendlichen unter 16 Jahre mit ALL in der Kinderklinik der Johann Wolfgang von Goethe-Universität diagnostiziert und in die BFM 79-81 Studie aufgenommen. Die Patienten wurden nicht selektiert. Behandlungsplan und Studienkriterien sind in Anm. 137 beschrieben.
Die ALL Diagnose wurde von 2 erfahrenen Onkologen nach zytomorphologischen Kriterien an panoptisch gefärbtem Knochenmark und peripheren Blutausstrichen gestellt. Zum Ausschluß einer nicht-lymphoblasten Leukämie wurde die Peroxidase- und Esterase-Reaktion durchgeführt. Nur Patienten mit mehr als 25% Blasten im Knochenmark wurde in die Studie aufgenommen. Zuordnung der Patienten in

die strategischen Gruppen A und B erfolgte nach der Ermittlung des Risikoindex gemäß Tabelle 12. Die PAS-Reaktion und die AcP-Reaktion wurden an prätherapeutischen KM-Ausstriche durchgeführt. Für die Klassifikation entscheidend waren in der PAS-Reaktion nur die typischen grobscholligen Produkte und bei der AcP-Reaktion nur die kräftigen, fokalen, paranukleären Reaktionen. Eine immunologische Evaluation zum Nachweis von Slg zur Diagnose einer B-ALL und der Rosettentest (E-test) zur Erkennung einer T-ALL konnte aus labortechnischen Gründen nur bei 20 Kindern durchgeführt werden. Um jedoch eine einheitliche Differenzierung vornehmen zu können, wurde die Wahrscheinlichkeit einer E+ALL nach dem 'Linear Logistic Regression Modell'[83] berechnet, eine Methode, die schon an Patienten der BFM 70/76 angewendet wurde.[134] Die Ermittlung der Wahrscheinlichkeit einer E+ALL (pE+) wurde anhand 5 prätherapeutischer, klinischer Daten errechnet: Thymustumor, initiale WBC, Alter, Geschlecht und Lymphknotenerweiterung.

Zur Erfassung eines Thymustumors wurden Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen angefertigt. Befall von Leber und Milz wurden sonographisch festgestellt. Eine initiale Leukämie des ZNS wurde bei Vorliegen einer morphologisch eindeutigen Blastenpleozytose in routinemäßig prätherapeutisch durchgeführten Lumbalpunktionen diagnostiziert. Zusätzlich wurde die DAP IV-Reaktion nach Fließdiagramm in Tabelle 13 durchgeführt.

2.4 Statistische Verfahren

Unterschiede zwischen Patientengruppen wurden am Signifikanz-Niveau von $p < 0.05$ getestet. Der korrigierte Chiquadrat-Test wurde für prozentuale Unterschiede benutzt. Im Falle kleiner Stichprobenanzahl wurde der Chiquadrat-Test durch den Fischers Exakter Vierfeldertest ersetzt. Mit den Mann-Whitney Rangsummentest (U-Test) wurden Unterschiede in kontinuierlichen Variablen überprüft. Dieser Test konnte nicht bei den Medianen der pE und DAP IV Kollumnen in Tabelle 2-4 angewandt werden, da die DAP IV+ und pE+ Gruppen 3 bzw. 5 Patienten enthielten. Korrelationen zwischen kontinuierlichen Variablen wurden durch die Spearman'scher Rangkorrelation Methode ermittelt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Interrelationen untersuchter prognostischer Faktoren

Tabelle 1 zeigt die Verteilung der BFM-definierten Risikofaktoren bei den Patienten des Frankfurter Zentrums im Vergleich zu der gesamten BFM-Studie.
Die Tabellen 2-4 zeigen den Zusammenhang zwischen Lymphoblasten-Zytochemie und klinischen Initialbefunden und definierten Risikofaktoren.

3.1.1 Die PAS-Reaktion

Keine der untersuchten klinischen Parameter konnte zwischen PAS+ und PAS- Fällen differenzieren. Auch konnte keine signifikante Beziehung zwischen PAS- und anderen klinischen oder zytochemischen Risikofaktoren gefunden werden.

3.1.2 Der Wahrscheinlichkeitsfaktor der T-ALL

Die Berechnung der Wahrscheinlichkeit einer E+ ALL (pE+) ergab 5 Patienten mit einem $pE \geq 0.7$ (Median 0.96, Variationsbreite 0.74-0.99). Sie können daher als E+ ALL betrachtet werden. 33 von 38 Patienten hatten einen $pE < 0.7$ (Median 0.0, Variationsbreite 0.0-0.32). Ein Patient, dessen zellimmunologische Phenotypisierung Slg+ Blasten ergab, wurde in diesen Berechnungen nicht einbezogen. Da die Wahrscheinlichkeit eines ALL-Patienten an einer B-ALL zu erkranken 0.01 ist, könnten die pE- Kinder wohl als an non B- non T-ALL erkrankt angesehen werden. Keiner der 16 E-Slg- Patienten wurde als pE+ bestimmt, aber einer der drei E+ Knaben als pE- ($p = 0.02$). Alle pE+ Kinder waren männlich und hatten einen Thymustumor ($p < 0.01$). Während der Altersmedian der pE-Kinder 4 Jahre 7 Monate war, befand sich nur ein pE+ Patient innerhalb der 2-10 Jahre Altersspanne ($p = 0.03$). Signifikante Beziehungen wurden zwischen pE+ Patienten und AcP+ ($p = 0.01$), DAP IV+ ($p = 0.04$), Kinder die mehr als 100.000 Thrombozyten/mm^3 hatten ($p = 0.05$), und Kindern die das Lymphoma Syndrom zeigten ($p = 0.05$), ermit-

telt. Die obengenannten Beziehungen galten in gleicher Weise für die 3 E+ Knaben.

3.1.3. Die AcP-Reaktion

Bei 9 Patienten, d.h. 30 % der Knaben und 13 % der Mädchen konnten AcP positive Blasten gefunden werden. 5 von 6 Patienten mit einem Thymustumor ($p < 0.01$), 4 von 5 pE+ Fällen ($p = 0.01$) reagierten enzympostitiv. Von den hämatologischen Parametern war der Haemoglobinmedian signifikant höher bei den AcP+ Fällen, obgleich der Risikofaktor Haemoglobin $\geq$10g/dl in den 2 Gruppen nicht signifikant verschieden verteilt war. Thrombozyten zeigten den umgekehrten Befund. Während kein Unterschied zwischen der medianen Thrombozytenzahl bei den AcP+ und AcP- Gruppen nachzuweisen war, war der Risikofaktor Thrombozyten $\leq 10^5/mm^3$ signifikant seltener bei den AcP+ Patienten.

3.1.4 Die DAP IV-Reaktion

Bei einem 7 Jahre 7 Monate alten Mädchen und bei 2 Jungen im Alter von 11 Jahren 10 Monaten und 13 Jahren konnten mit DAP IV positiv reagierende Blasten festgestellt werden. In jedem dieser Fälle reagierten über 90% der KM-Lymphoblasten enzympositiv, während in den enzymnegativen Fällen keine DAP IV-Reaktion nachweisbar war. Alle DAP IV Fälle stellten sich als AcP+ heraus ($p = 0.01$), hatten eine WBC $\geq$ 25.000 ($p = 0.03$) und waren in der HR-Gruppe gemäß dem RI-Index

(p = 0.05). Die zwei Knaben waren beide pE+ (p = 0.04) und wiesen einen Thymustumor auf (p = 0.06).

3.2 Interkorrelation klinischer und hämatologischer Parameter

Als nächstes wurde die Verteilung verschiedener Initialbefunde und Risikofaktoren in der HR- und LR- Gruppe gemäß der RI und RF - Klassifikation betrachtet (Tabellen 6-8). Da nur ein Patient einen RF $>$ 1.7 hatte, wurde der RF-Faktor der Studienteilnehmer dichotomisiert als entweder RF $<$ 1.2 oder RF $\geq$ 1.2.
Die pathologischen Befunde bei den Patienten sind hauptsächlich die Konsequenz der proliferativen und infiltrativen Eigenschaften der malignen Zellen.
Tabelle 5 zeigt die Korrelation von Thrombozyten, Haemoglobin, % periphärer Lymphoblasten (% Blasten) und dem Ausmaß der Leber- und Milzvergrößerung mit WBC und der Anzahl der periphären Lymphoblasten (BL) und die Interkorrelation dieser Variablen. Die Korrelation dieser Variablen mit den RI und RF- Faktoren ist sekundär zu ihrer Korrelation mit WBC und BL.

3.3 Verteilung der Risikofaktoren in den prognostischen Gruppen gemäß der RI und RF Klassifikation

Wegen der oben beschriebenen Interkorrelationen waren mediane WBC, mediane % Blasten, mediane

BL, und das Vorkommen und Ausmaß der Leber- und Milzvergrößerung signifikant verschieden in den HR und LR- Strata der RI-Klassifikation ($p < 0.01$ für Alle).
Ein WBC $\geq$ 25.000 war der Hauptgrund einen Patienten in die HR-Gruppe einzuteilen. Eine Kombination von Initialbefunden ohne einen WBC $\geq$ 25.000 bedeutet einen Risikoindex von RI $\geq$ 3 bei nur zwei von fünfzehn HR-Patienten ($p < 0.01$). Einer dieser Patienten war E+, der andere pE+.
Von den anderen BFM-definierten Risikobefunden, die je zu einem Drittel der Punkte zur Definition der HR-Gruppe beitragen könnten, konnte nur bei Organomegalie und bei Thymustumor eine signifikante Beziehung zu der HR-Gruppe gefunden werden. In dieser Gruppe waren 9 von 10 Patienten mit Organomegalie-Befund ($p < 0.01$) und 5 von 6 Patienten mit einem Thymustumor ($p = 0.05$). Von den fünfzehn HR-Patienten, hatten 12 eine Splenomegalie ($p < 0.01$) und 13 einen Hepatomegalie-Befund ($p = 0.01$).

10 von den 12 Patienten, die das CCG-definierte Lymphoma Syndrom (LS) aufwiesen, waren in der HR-Gruppe ($p = 0.01$), hauptsächlich wegen der Stärke der Beziehung zwischen Leber-, Milz- und Mediastinalvergrößerung mit der HR-Gruppe.
Von den zytochemischen Reaktionen konnte nur DAP IV zwischen WBC $<$ und $\geq 25 \cdot 10^3$ differenzieren ($p = 0.03$) und daher auch zwischen den beiden RI-Gruppen ($p = 0.05$).

Die RF-Klassifikation basiert auf einem mathematischen Modell zur Abschätzung der Tumorzellmasse in den drei Kompartimeten, periphäres Blut, Leber

und Milz. Die Mediane aller zur Berechnung von RF beitragenden Initalbefunde, d.h. WBC, BL, % Blasten, Vorkommen und Ausmaß einer Leber- oder Milzvergrößerung, zeigten einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den beiden RF-Gruppen ($p < 0.01$ für alle).

Die mediane Thrombozytenzahl war signifikant niedriger in der HR-Gruppe, verglichen mit der LR-Gruppe, im wesentlichen auf Grund der Korrelation zwischen der Thrombozytenzahl, BL und der Splenomegalie.

Alle anderen untersuchten Risikofaktoren und zytochemischen Reaktionen konnten nicht zwischen den beiden Strata differenzieren.

3.4 Beziehung zwischen der RI und RF-Klassifikation

Neun von zehn Patienten mit einem RI ≥ 3 waren in der RF ≥ 1.2 Gruppe ($p < 0.01$), mit einem medianen RI-Faktor in beiden Gruppen von 1 bzw. 5 ($p = 0.02$). Auch in der RI-Klassifikation waren sowohl der mediane RF-Faktor als auch das Verhältnis von RF < 1.2 und RF ≥ 1.2 Patienten in der HR und LR-Gruppe, gemäß der RI-Klassifikation signifikant verschieden ($p < 0.01$). Insgesamt war die Wahrscheinlichkeit eines Patienten in derselben Risikokategorie, gemäß beider Klassifikationen eingeteilt zu werden, 0.8 und damit signifikant verschieden vom Erwartungswert 0.5 ($p < 0.01$).

Bei 37 untersuchten Patienten war die Korrelation zwischen den RI und RF-Faktoren r_s = 0.66 (p = 0.01).

4. DISKUSSION

Die Erkenntnis der Heterogenität der ALL führte zu der Einsicht, daß verschiedene Untergruppen dieses klinischen Syndroms existieren, die sich aus Neoplasien von Blasten in verschiedenen Stadien der Lymphozytopoese ergeben. Diese weisen grundlegend verschiedene biologische Verhaltensmuster auf und könnten verschieden sensitiv reagieren für unterschiedliche therapeutische Konzepte.
Um die Wirksamkeit eines Therapieprotokolls einzuschätzen und die Ergebnisse klinischer Forschungsstudien zu vergleichen, die von verschiedenen Institutionen oder zu verschiedener Zeit gemacht wurden, ist es wichtig, die Studienteilnehmer prognostisch zu charakterisieren. Es ist unerläßlich die Proportion von Patienten in verschiedenen Risikogruppen zu kennen, um gültige Vergleiche ziehen zu können.

Ferner erlaubt die Charakterisierung eine Zusammenfassung mehrerer verschiedener Studien, um eine auch retrospektiv mögliche Stratifizierung der Patienten in homogenere Untergruppen zu ermöglichen, die noch groß genug sind für verschiedene statistische Analyseverfahren.

Die Bewertung der Literaturdaten verschiedener Studien, die sich mit dem prognostischen Wert

mehrerer prätherapeutischer Merkmale beschäftigten, brachte sich widersprechende Resultate. Da keine allgemein sanktionierten Standardisierungsnormen aufgestellt wurden, könnte die unterschiedliche Methodologie eine Erklärungsmöglichkeit für den Mangel an Konkordanz sein, besonders der zytologischen und methodologischen Reaktionen. Eine weitere mögliche Erklärung wäre, daß in den meisten dieser Studien die Risikofaktoren mit dem CCR in univariater oder multivariater Weise korreliert wurden. Seit der Einführung des 'Total-Therapie'-Konzeptes ist das CCR jedoch hauptsächlich eine Funktion des Types, der Potenz und Selektivität des benutzten Protokolls und der Qualität des begleitenden Unterstützungsprogramms.
Prognostische Faktoren müssen daher als studienintrinsisch betrachtet werden und können nicht ohne weiteres von einer Studie auf die andere übertragen werden, wenn sie sich zu sehr unterscheiden.
Eine Methode, neueinzuführende prognostische Variablen dennoch einschätzen zu können, wäre diese Variable in Beziehung zu anderen anerkannten, prognostischen Faktoren zu setzen.

Die vorliegende Studie versucht die Studienpopulation durch Interrelation der definierten Risikofaktoren zu charakterisieren. Die Ergebnisse deuten an, daß eine einfaktorielle Analyse irreführend sein könnte. Stattdessen sollten Kombinationen von pathologischen Befunden analysiert werden, da diese Befunde eine gemeinsame Ursache haben und daher interkorreliert sind.
Dementsprechend waren von den 6 Patienten mit

einem Thymustumor fünf pE+ und der Sechste E+. Alle waren Knaben und wiesen das Lymphoma Syndrom auf. Nur einer dieser Knaben hatte AcP negative Blasten.
Auch konnten signifikante nichtlineare Interkorrelationen zwischen den von der Lymphoblasteninfiltration verursachten klinischen Parametern beobachtet werden.

Annähernd während der gesamten Dauer der Rekrutierungsperiode waren Einrichtungen zur immunologischen Phenotypisierung der ALL-Patienten nicht verfügbar. Der immunologische Phenotyp wurde mit Hilfe eines mathematischen Modells berechnet, das geeignet war, die größte Untergruppe der T-ALL zu definieren, die durch mediastinale und nodale Tumoren eine hohe initiale WBC charakterisiert ist und in der ältere männliche Kinder vorherrschen.
Diese Gruppe enthält, nach Literaturzitat 77, ca. 80% aller T-ALL Patienten.
Wegen der großen Abhängigkeit von initialer WBC, konnte durch diese Methode einer der drei E+ Patienten, der eine niedrige initiale WBC aufwies, nicht identifiziert werden. Nichtsdestoweniger verhielten sich die pE+ und E+ Fälle bezüglich anderer untersuchter Variablen ähnlich.
Entgegen manchen Berichten konnte die PAS-Reaktion nicht zwischen pE+ und pE- Blasten differenzieren. Auch konnten keine klinischen oder zytochemischen Parameter gefunden werden, die PAS+ von PAS- Fällen unterschieden.
Die AcP-Reaktion wurde in ihrer Fähigkeit T-ALL Fälle aufzudecken bestätigt. Vier der fünf pE+, und der E+ Patienten wiesen fokale paranukleäre

AcP-Aktivität in mehr als 70 % der Lymphoblasten auf. Drei der vier AcP+ pE- Fälle hatten fokale paranukleäre AcP-Aktivität in weniger als 50 % der Lymphoblasten. Sie zeigten kein signifikant verschiedenes klinisches Bild als die AcP+ $\geq$ 70 %-Fälle, außer dem Fehlen eines Thymustumores. Sie sollten in weiteren Studien als enzymnegativ betrachtet werden.

Obwohl nur in einer kleinen Serie getestet, scheinen die Vorteile der DAP IV-Reaktion im allgemeinen, und gegenüber der AcP-Reaktion im speziellen, ihre überlegene Spezifität, Sensitivität und die technische und prozedurale Einfachheit der Durchführung zu sein. In den enzympositiven Fällen reagieren über 90 % der Lymphoblasten. Die Interpretation ist daher rein qualitativ. Damit werden die oft mit Fehlern behafteten subjektiven, quantitativen oder andere 'Score-Systeme' ausgeschaltet.

Eine solche Reaktion ist besonders wertvoll für multizentrische Studien, wie die BFM-Studie, in der Validitätsschwankungen großen Einfluß auf die Ergebnisse ausüben, in der aber die Überprüfung der Befundsinterpretationen durch ein Zentrallabor zu aufwendig ist. Von der DAP IV-Reaktivität wird berichtet, daß sie in bis zu zwei Jahre alten KM-Ausstrichen nachzuweisen ist; dieses wurde hier nicht überprüft, um den knappen Bestand an historischen KM-Ausstrichen für mögliche zukünftige Studien zu erhalten. Das würde aber bedeuten, daß die DAP IV-Reaktion für die Aufstellung einer historischen Kontrollgruppe verwendet werden kann. Nachdem bisher kein Anhaltspunkt dafür besteht, daß dieses Enzym unter den lymphatischen Zellen bei anderen als den

T-Helferzellen anzutreffen ist, kann die DAP IV als ein harter T-Zell-Marker gelten, der darüber hinaus Neoplasien des T-Helferzell-Typs identifizieren kann.
Die biologischen, klinischen und therapeutischen Konsequenzen der DAP IV positiven Patienten müssen noch von einer größeren Serie untersucht und bestätigt werden.
Die Ergebnisse dieser Studie deuten an, daß eine solche Untersuchung eine lohnenswerte Aufgabe wäre.

Mit dem Aufkommen der monoklonalen Antikörper-Technologie wird die Heterogenität der ALL weiter standardisiert und spezifiziert. Ihre problemlose Verfügbarkeit und überlegene Spezifität könnten die oben beschriebenen Methoden obsolet machen. Da die überwiegende Mehrheit der ALL-Patienten noch immer in allgemeinpädiatrischen oder medizinischen Kliniken behandelt werden, die mit Laboreinrichtungen und Know-how nicht so gut ausgestattet sind wie forschungsorientierte Zentren, wird die Suche nach leicht zu handhabenden, zellspezifischen, zytochemischen Reaktionen, wie die DAP IV, ihre Berechtigung in der Leukämieforschung haben.

5. NACHTRAG: Laborjournal

Zum Erlernen und möglicherweise Optimieren der DAP IV-Reaktion wurden 4 Reihen peripherer Blutausstriche von hämatologisch gesunden Kindern erstellt. Die luftgetrockneten Ausstriche wurden zunächst nach Kaplow fixiert:

Fixationslösung:

Methanol/Formaldehyd (40 % Formalin) 9:1 (V/V)
a) 30 sec bei 0-3°C
b) 5 sec bei Zimmertemperatur
Im Vergleich zu unfixierten Ausstrichen gab es zwischen a) und b) keine Unterschiede. Aus Einfachheitsgründen wurde fortan b) benutzt.

Die Inkubation wurde nach Loyda durchgeführt:

Substrat:

Glycyl-Prolyl-4-Methoxy-ß-naphtylamide -Peptidase (Bachem)

Azokuppler:

Fast Blue B (Salt) Sigma.
Substrat/Azokuppler Verhältnis von 1:1 bis 1:5 wurde untersucht. Das Verhältnis 1:3 war am optimalsten.

Puffer:

0.1 m Phosphatpuffer im ph-Bereich 6,8-7,4 wurde untersucht. Das beste Färbeergebnis wurde im leicht alkalischen Bereich erzielt. Ph = 7,1 wurde fortan benutzt.

Inkubation:

Um Artefakte zu vermeiden, mußte das Inkubationsmedium 2-3 mal filtriert werden. Die bei Zimmertemperatur 40 min dauernde Inkubation kann im Inkubator auf die Hälfte reduziert werden. Beim Fehlen eines elektrischen Rüttlers mußte das Medium alle 10 Minuten durchgewirbelt werden.

Resultate:
Die Ausstriche wurden unter Ölimmersion (100x) bewertet. Das Reaktionsergebnis war in jedem Fall eindeutig. Ein oder mehrere verschiedenförmige Granulae ließen sich im Zytoplasma erkennen. 42 ± 4 % der peripheren Blutlymphozyten verhielten sich enzympositiv. Alle anderen korpuskulären Bestandteile des Blutes, soweit von Lymphozyten lichtmikroskopisch unterscheidbar, waren enzymnegativ.

Eine Suspension fetalen menschlichen Thymus' unbekannten Stadiums verhielt sich DAP IV negativ. Dies gibt Grund zu der Annahme, daß das Enzym in einer späteren fetalen Phase oder gar in der Peripherisation ausgerüstet wird.

Ich danke Herrn Professor Kornhuber für seine Freundlichkeit und seine stetige Gesprächsbereitschaft.

Tabelle 1:
Verteilung der BFM-definierten Risikofaktoren bei den Patienten des Frankfurter Zentrums im Vergleich zu der gesamten BFM-Studie

Patienenten-Charakteristik	FRA n	FRA (%)	BFM n	BFM (%)
Patienten	39	(100)	325	(100)
Alter*	61		65	
Jungen	23	(59)	189	(58.2)
Alter*	70		63	
Mädchen	16	(41)	136	(41.8)
Alter*	55		69	
WBC $\geq$25.000/mm^3	13	(33)	111	(34.2)
WBC $\geq$100.000/mm^3	3	(7.7)	37	(11.4)
ZNS-Befall	2	(5.1)	11	(3.4)
Thymus-Befall	6	(15.4)	29	(8.9)
AcP +	9	(23.1)	53	(16.3)
PAS -	17	(43.6)	126	(38.8)
Organbefall	10	(25.6)	46	(14.2)
Alter 2 Jahre	5	(12.8)	39	(12.0)
Alter 10 Jahre	6	(15.4)	84	(25.8)
Risikoindex $\leq$2	24	(61.5)	203	(62.5)
Risikoindex $\geq$3	15	(38.5)	122	(37.5)

* median in Monate

Tabelle 2:
Beziehung zwischen Lymphoblasten-Zytochemie und klinischen Initialbefunden

	PAS		AcP		pE		DAP IV	
	+	-	-	+	-	+	-	+
Patienten	22	17	30	9	33	5	36	3
Sex m:f (%)	12:10 (52:62)	11:16 (48:38)	16:14 (70:87)	7:2 (30:13)	17:16 (74:100)	5:0 (22:0)	21:15 (91:94)	2:1 (9:6)
Alter*/Monate	54,5	70	55	62	55,5	124	55,5	142
WBC*/mm^3	7800 (3100-37100)	14200 (2000-1190000)	9200 (2000-1190000)	18000 (5000-93100)	9050 (2000-1119000)	32700 (8700-93100)	9050 (2000-1119000)	48100 (32700-93100)
% Blasten*	25 (0-99)	59 (0-100)	57 (0-100)	25 (0-72)	30 (0-100)	57 (9-78)	28 (0-100)	67 (57-72)
BL* (periphär)/mm^3	4608 (0-367290)	7139 (0-1119000)	5304 (0-1190000)	4500 (0-53067)	5076 (0-1119000)	21909 (783-53067)	4608 (0-1119000)	34632 (21909-53067)
Thrombozyten*/mm^3	50000 (2000-320000)	68000 (2000-352000)	50000 (2000-220000)	132000 (4000-352000)	57000 (2000-352000)	126000 (4000-202000)	68000 (2000-352000)	20000 (4000-170000)
Haemoglobin*g/dl	8,8 (1.3-15.1)	9,9 (4.1-15.6)	8,8 (1.3-15.1)	p=0.03 11,4 (7.4-15.6)	9,0 (1.3-15.6)	13,1 (8.8-14.3)	9,0 (1.3-15.6)	10,1 (8.8-13.1)
Hepatomegalie*/cm	1.3 (0-8.0)	3 (0-8.0)	2 (0-8.0)	1 (0-7.0)	2 (0-8.0)	1 (0-7)	2 (0-8)	4 (0-7)
Splenomegalie*/cm	0 (0-7,0)	1 (0-7,0)	0 (0-7,0)	0 (0-7,0)	0 (0-7,0)	0 (0-7,0)	0 (0-7,0)	0 (0-7,0)

* median () Variationsbreite

Tabelle 3:
Beziehung zwischen Lymphoblasten-Zytochemie und BFM-definierten Risikofaktoren

	PAS		AcP		pE		DAP IV	
	+	-	-	+	-	+	-	+
WBC $\geq$25000/mm^3	6/22	1/17	0/30	3/9	10/34	3/5	10/36 **p = 0.03**	3/3
Alter $>2, <10$	17/22	11/17	22/30	6/9	27/34	1/5	27/36	1/3
$\leq 2, \geq 10$	5/22	6/17	8/30	3/9	7/34 **p = 0.03**	4/5	9/36	2/3
Thymustumor	2/22	4/17	1/30 **p $<$ 0.01**	5/9	1/34 **p $<$ 0.01**	5/5	4/36 **p = 0.06**	2/3
AcP +	4/22	5/17	———		5/34 **p = 0.01**	4/5	6/36 **p = 0.01**	3/3
pE +	2/22	3/17	1/30 **p = 0.01**	4/9	———		3/36 **p = 0.04**	2/3
PAS -	·	———	12/30	5/9	14/34	3/5	15/36	2/3
Extralymphatischer Befall	5/22	5/17	8/30	2/9	8/34	2/5	9/36	1/3
RI*	0 (0-8)	3 (1-8)	1 (0-7)	3 (1-8)	1 (0-7)	6 (2-8)	1 (0-7)	8 (5-8)
RI ≥ 3	6/22	9/17	10/30	5/9	11/34	4/5	12/36 **p = 0.05**	3/3
RI <3	16/22	8/17	20/30	4/5	23/34	1/5	24/36 **p = 0.05**	0/3

* median () Variationsbreite

Tabelle 4:
Beziehung zwischen Lymphoblasten-Zytochemie und verschiedenen definierten Risikofaktoren

	PAS		AcP		pE		DAP IV	
	+	-	-	+	-	+	-	+
DAP IV+	1/22	2/17	0/30 **p = 0.01**	3/9	1/33 **p = 0.05**	2/5		
Hb≥10 g/dl	9/21	8/17	11/29	6/9	14/33	3/5	15/36	2/3
Thrombozyten ≤ 100.000/mm^3	13/21	11/17	22/29 **p = 0.01**	2/9	23/33 **p = 0.05**	1/5	22/35	2/3
Lymphoma Syndrom	5/20	7/17	7/28	5/9	8/32 **p = 0.05**	4/5	10/34	2/3
Lymphadenopathie	3/22	6/17	4/30	5/9	6/34	3/5	8/36	1/3
Hepatomegalie	13/20	10/17	18/28	5/9	20/32	3/5	21/34	2/3
Splenomegalie	8/21	10/17	14/29	4/9	16/33	2/5	16/35	2/3
RF*	0.776 (0-1.645)	0.929 (0-1.730)	0.861 (0-1.730)	0.868 (0-1.645)	0.821 (0-1.730)	0.890 (0.791-1.645)	0.821 (0-1.730)	1.308 (0.868-1.645)
RF < 1.2	16/20	11/17	21/28	6/9	23/32	4/5	26/34	1/3
≥1.2	4/20	6/17	7/28	3/9	9/32	1/5	8/34	2/3

* median () Variationsbreite

	WBC	BL	% Blasten	Thrombos.	Hepatomegalie	Splenomegalie	Hb		RF	RI
WBC	*	0.90 0.001 (38)	0.60 0.001 (38)	-0.30 0.04 (38)	0.43 0.004 (37)	0.52 0.001 (38)	0.15 N.S. (38)	WBC	0.80 0.001 (37)	0.75 0.001 (39)
BL		*	0.84 0.001 (38)	-0.53 0.001 (37)	0.42 0.005 (37)	0.58 0.001 (38)	-0.12 N.S. (37)	BL	0.89 0.001 (37)	0.65 0.001 (38)
% Blasten			*	-0.54 0.001 (37)	0.30 0.04 (37)	0.45 0.003 (38)	-0.26 N.S. (37)	% Blasten	0.75 0.001 (37)	0.45 0.03 (38)
Thrombos.				*	-0.28 0.05 (37)	-0.43 0.004 (37)	0.50 0.001 (38)	Thrombozyten	-0.51 0.001 (37)	-0.13 N.S. (38)
Hepatomegalie					*	0.68 0.001 (37)	-0.14 N.S. (37)	Hepatomegalie	0.72 0.001 (37)	0.33 0.02 (38)
Splenomegalie						*	-0.05 N.S. (37)	Splenomegalie	0.84 0.001 (37)	0.66 0.001 (37)
Hb							*	Hb	-0.10 N.S. (37)	0.19 N.S. (37)
RF	0.80 0.001 (37)	0.89 0.001 (37)	0.75 0.001 (37)	-0.51 0.001 (37)	0.72 0.001 (37)	0.84 0.001 (37)	-0.10 N.S. (37)		*	0.66 0.001 (37)
RI	0.75 0.001 (39)	0.65 0.001 (38)	0.45 0.03 (38)	-0.13 N.S. (38)	0.33 0.02 (38)	0.66 0.001 (37)	0.19 N.S. (37)		0.66 0.001 (37)	*

r spearman
p (n)

Tabelle 5:
Interkorrelation klinischer und hämatologischer Parameter

Tabelle 6: Verteilung der klinischen Initialbefunde in den prognostischen Gruppen gemäß der RI und RF-Klassifikation

	RF			RI		
	< 1.2		≥ 1.2	< 3		≥ 3
Patienten	27		10	24		15
Sex m:f	17 : 10		5:5	13:11		10:5
Alter*/Monate	62 (23-188)		42 (1-142)	58.5 (25-188)		61 (1-156)
WBC*/mm^3	8.500 (20000 -39700)	$p < 0.01$	64.050 (8100-1119000)	6.700 (2000-21000)	$p < 0.01$	36.200 (8100-1119000)
% Blasten*	19 (0-96)	$p < 0.01$	78 (13-100)	25 (0-96)	$p < 0.01$	72 (9-100)
BL* (peripher)/mm^3	2.548 (0-28236)	$p < 0.01$	40.116 (1053-1119000)	2256 (0-11786)	$p < 0.01$	292000 (783-1119000)
Thrombozyten*/mm^3	88.000 (2000-320000)	$p = 0.02$	14.000 (2000-352000)	70.000 (2000-320000)		50.000 (2000-352000)
Hb* g/dl	10.3 (1.3-15.6)		8.9 (6.5-14.2)	8.6 (1.3-15.6)		9.9 (6.4-15.1)
Hepatomegalie*/cm	0 (0-8)	$p < 0.01$	4 (3-7)	0 (0-8)	$p < 0.01$	4 (0-7)
Splenomegalie*/cm	0 (0-5)	$p < 0.01$	5 (2-7)	0 (0-5	$p < 0.01$	4 (0-7)

* median
( ) Variationsbreite

Tabelle 7: Verteilung der BFM-definierten Risikofaktoren in den prognostischen Gruppen gemäß der RI und RF-Klassifikation

	RF			RI		
	< 1.2		≥ 1.2	< 3		≥ 3
WBC $\geq 25000/mm^3$	5/27	$p < 0.01$	8/10	0/24	$p < 0.01$	13/15
Alter $>2, <10$	21/27		5/10	22/24		6/15
$\leq 2, \geq 10$	6/27		5/10	2/24		9/15
Thymustumor	4/27		2/10	1/24	$p = 0.05$	5/15
AcP +	6/27		3/10	4/24		5/15
pE +	4/27		1/10	1/24		4/15
PAS -	11/27		6/10	8/24		9/15
Extralymphatischer Befall	5/27		5/10	1/24	$p < 0.01$	9/15
RI*	1 (0-8)	$p = 0.02$	5 (5-8)	0.5 (0-2)		5 (3-8)
RI ≥ 3	6/27	$p < 0.01$	9/10	—		—
RI < 3	21/27	$p < 0.01$	1/10	—		—

Tabelle 8: Verteilung verschiedener definierter Risikofaktoren in den prognostischen Gruppen gemäß der RI und RF-Klassifikation

	RF		RI	
	< 1.2	≥ 1.2	< 3	≥ 3
DAP IV +	1/27	2/10	0/24	$p = 0.05$ 3/15
Hb 10 g/dl	14/27	3/10	10/23	7/15
Thrombozyten 100000/mm^3	25/27	9/10	14/23	10/15
Lymphoma Syndrom	6/27	6/10	2/22	$p < 0.01$ 10/15
Lymphadenopathie	5/27	4/10	3/24	6/15
Hepatomegalie	13/27	$p = 0.01$ 10/10	10/22	$p = 0.03$ 13/15
Splenomegalie	8/27	$p < 0.01$ 10/10	6/23	$p < 0.01$ 12/15
RF*	0.760 (0.1-1.56)	1.363 (1.213-1.730)	0.697 (0-1.254)	$p < 0.01$ 1.245 (0.868-1.730)
RF < 1.2	—	—	21/22	$p < 0.01$ 6/15
RF ≥ 1.2	—	—	1/22	$p < 0.01$ 9/15

* median
( ) Variationsbreite

REF.	Anzahl der Pat.	Dauer der Rekrutierungsperiode	Altenslimit	Therapie	Stratifikation	Endpkt.	Statistische Analyse	Tabelle 9: Prognose in Abhängigkeit von prätherapeutischen Variablen in verschiedenen Studien
5	73	1970-76	16	U	Nein	CCR	Multivariate Analyse nach Cox in 1981	**Signifikant:** WBC ($p < 0.001$), Splenomegalie ($p < 0.001$), Hepatomegalie ($p < 0.001$) **Nicht Signifikant:** PAS-Reaktion, Thymustumor, Haemoglobin, Thrombozytenzahl, Alter ≠ 2-10 Jahre, AcP-Reaktion, Sex.
143	936	1972-75	18	U*	Nein	CCR	Multivariate Analyse nach Cox in 1978	**Signifikant:** WBC ($p < 0.001$), Sex ($p < 0.001$), Alter ($p < 0.001$), ZNS-Protokoll* ($p < 0.001$), Lymphadenopathie ($p < 0.01$), Haemoglobin ($p < 0.05$), Thrombozytenzahl ($p < 0.05$) **Nicht Signifikant:** ZNS-ALL, Down Syndrom, Hepatomegalie, Splenomegalie, Thymustumor
144	880	1975-78	18	U	Ja	CCR	Multivariate Analyse nach Cox in 1981	**Signifikant:** log WBC ($p = 0.002$), Haemoglobin ($p = 0.005$), IgM ($p = 0.005$), Splenomegalie ($p = 0.007$), Alter ($p = 0.04$), Sex ($p = 0.04$) **Nicht Signifikant:** IgA, IgG, FAB-Morphologie, Thrombozytenzahl, ZNS-ALL, Lymphadenopathie, Thymustumor, Hepatomegalie
145	199	1971-76	16	U	Nein	CCR	Multivariate Analyse nach Cox in 1980	**Signifikant:** WBC ($p < 0.0001$), FAB-Morphologie ($p < 0.0001$), PAS-Reaktion ($p = 0.0002$) **Nicht Signifikant:** Hepatomegalie, Splenomegalie, ZNS-ALL, Haemoglobin, Thymustumor, Thrombozytenzahl, Alter, Sex, u.a.
146	176	1971-81	14	U	Nein	CCR	Multivariate Analyse nach Cox in 1982	**Signifikant:** Blood score= f (Haemoglobin, Thrombozytenzahl und Anzahl polymorphnukleäre Zellen) ($p = 0.01$), **Nicht Signifikant:** Sex, WBC, Therapieprotokoll, Alter, Thymustumor, Haemoglobin, Thrombozytenzahl, % Blasten in KM oder PB, Anzahl polymorphnukleäre Zellen

* Therapie war einheitlich, unterschied sich jedoch im ZNS-Protokoll

Tabelle 10: Immunologische Klassifizierung der ALL (70-82)

Klassische Klassifikation	ALL Subtyp	(FAB)	E+	Slg	CALLA	Ia	HTLA	Clg	TdT	Standard Klassifikation
T-ALL (E +, Slg -)	T-ALL	L_1, L_2	+	-	-	-	+	-	+	T-ALL
Non B - Non T - ALL (E -, Slg -)	c/T-ALL	L_1, L_2	-	-	+	-	+	-	+	C-ALL
	pre T-ALL	L_1, L_2	-	-	-	-	+	-	+	
	NULL-ALL	L_1, L_2	-	-	-	+	-	-	+	Null(Unclass.)ALL
	Common-ALL	L_1, L_2	-	-	+	+	-	-	+	C-ALL
	pre B-ALL	L_1, L_2	-	-	+	+	-	+	+	
B-ALL (E -, Slg +)	B-ALL	L_3, L_2	-	+	-	+	-	-	-	B-ALL

FAB = French-American-British Nomenklatur
E+ = Rosettentest positiv
Slg = Oberflächen Immunglobulin
CALLA = Common ALL Antigen
Ia = Immune Associated Antigen
HTLA = Human Thymic Lymphocyte Antigen
Clg = Zytoplasmatische Immunglobulin
TdT = Terminal deoxynucleotidyl Transferase

Tabelle 11: Charakterisierung E+ ALL Patienten durch verschiedene Studien

REF.	Selektionsmodus*	Altersgrenze in Jahren	Anzahl der Patienten	Anzahl E + ALL (% d. Studie)	Benutz. Zellen**	Min.% E + Blasten zur Diagnosestellung	m:f bei E+ ALL (m:f der gesamten Studie)	median Alter bei E + ALL (med. Alter der gesamten Studie)	% WBC $>10^5/mm^3$ bei E + ALL (% WBC $10^5/mm^3$ der gesamten Studie)	Thymustumor bei E + ALL (E - ALL)	Therapie***	Prognose	Max. Follow-up/ Monate
83	Z	19	109	26(24)	BM	4	24:2 (68:41)	≥ 6 (5)	50 (8)	73 (3)	ST	E+ < E-	NA
84	C	16	100	22(22)	BM	10	15:7 (62:38)	7 (5)	32 (13)	27 (9)	I	KD (a)	48
85	S	15	94	11(12)	PB/BM	NA	9:2 (55:39)	7 (4)	73 (11)	82 (5)	ST	E+ < E-	48
86	S	16	208	39(19)	BM	NA	31:8 (127:81)	9 (9)	79(29) > $25 \cdot 10^3$	49 (2)	ST	KD	24
87	NA	NA	65	10(15)	PB/BM	50	M > F	12 (6)	E+ > E-	60	NA	E+ < E-	NA
88	NA	14	48	15(31)	PB/BM	20	M = F	KD	KD	20	ST	E+ < E-	12-46
89	NA	NA	37	8(22)	BM	20	7:1 (22:6)	7 (7)	75(21) > $5 \cdot 10^4$	62 (0)	U	E+ < E-	NA
90	NA	11	29	5(17)	PB	50	3:2 (15:14)	6 (5)	20 (3)	20 (0)	U	KD (b)	40
65	NA	NA	61	11(18)	BM	25	8:3 (32:29)	16 (7)	73(38) > $2 \cdot 10^4$	45 (6)	U	E+ < E-	40
77	S	21	542	73(13)	PB/BM	NA	60:13(328:214)	NA	23 (9)	53 (0)	I	KD (c)	> 12
91	C	15	47	13(28)	BM	20	9:4 (30:17)	5 (6)	77(41) > $2 \cdot 10^4$	62 (0)	U	E+ < E-	26
92	C	NA	179	33(18)	BM	2	KD	KD	48 (20)	52 (1)	ST	E+ < E-	8-26

* C = konsekutiv, S = selektiert, Z: zufällig selektiert
** BM = Knochenmark, PB: peripheres Blut
*** ST: Stratifiziert, U: Uniform, I: Intrastudielle Unterschiede
NA: Nicht angegeben; KD: Keine Unterschied

(a): E+ ALL und E- ALL mit Thymustumor vs E- ohne Thymustumor
(b): Nur 26 von 29 Patienten evaluiert
(c): Kein Unterschied nach Stratifikation nach WBC für 379 Patienen

Tabelle 12: Bestimmung des Risikoindex in der BFM-Studie

Initialbefund	Punkte
Leukozytenzahl 25.000/mm^3	3
initialer ZNS-Befall	2
Thymusbefall	1
AcP-Reaktion und/oder E-Rosettentest positiv	1
PAS-Reaktion negativ	1
Alter < 2 oder ≥ 10 Jahre	1
Ausgeprägter Befall einer nichtlymphatischen Organ	1

Risikoindex: Summe der Punkte

Tabelle 13: Fließdiagramm der DAP IV Inkubation

Fixation: Luftgetrockneter Ausstrich 5 sec in Methanol/Formaldehyd (40% Formalin) Lsg. 1:9 (V/V) bei Zimmertemperatur

↓ Unter fließenden H_2O spülen

Inkubation

7mg DAP IV (Bachem) gelöst in 1ml Dimethylformamid (Merck)

+

21mg Fast Blue Salt (Sigma) in 1ml Dimethylformamid

+

20ml Phosphatpuffer ph=7,1

↓ frisch ansetzen und 2 x filtrieren Filterpapier mit weiteren 20 ml Phosphatpuffer spülen

40 Minuten auf dem elektrischen Rüttler oder unter häufigem Rühren inkubieren

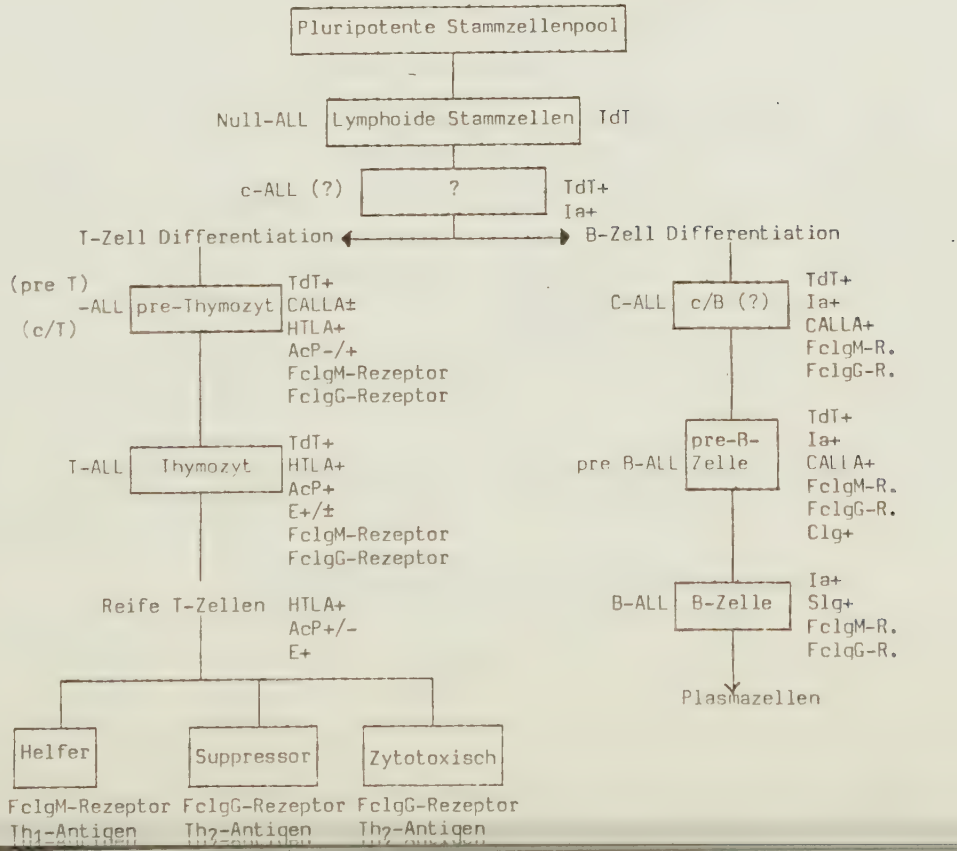
↓ mit H_2O spülen

mit Hämalaun zur Darstellung der Kerne färben und unter fließendem H_2O bläuen

↓

Mikroskopische Evaluation erfolgt unter Ölimmersion (x100)

Tabelle 14: Schematische Darstellung der Stadien der T und B-Lymphozytopoese und ihre Marker (Erklärungen in Tabelle 10 und Text)



7. ZUSAMMENFASSUNG

Die Wechselbeziehung zwischen den definierten hämatologisch und zytochemisch prognostischen Initialbefunden und Risikoindices wurden anhand der 39 an ALL erkrankten Kindern analysiert, die in der Frankfurter Universitäts-Kinderklinik diagnostiziert und in die BFM-Studie 79/81 aufgenommen wurden. Als Zusatzvariable wurde die Peptidase DAP IV eingeführt, deren Optimierung und Anwendbarkeit in der klinischen Routine und im Vergleich zu anderen zytochemischen Reaktionen auch Ziel dieser Untersuchung war. Signifikante nichtlineare Interkorrelationen wurden gefunden zwischen der initialen Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, Prozent und Anzahl peripherer Lymphoblasten und Ausmaß der Hepato- und Splenomegalie. Auch konnte eine signifikante Korrelation zwischen den RF- und RI-Risikoindexen gefunden werden. Die PAS-Reaktion konnte in keiner Beziehung mit anderen klinischen und zytochemischen Risikofaktoren gesetzt werden. Die AcP-Reaktion hingegen, wurde in ihrer Fähigkeit, T-ALL Fälle aufzudecken, bestätigt. Die AcP+ Kinder hatten signifikant häufiger einen Thymustumor, pE+ Blasten, höheren medianen Haemoglobin und waren seltener Thrombozytopenisch. Die nach einem mathematischen Modell errechneten pE+ Fälle waren Knaben, signifikant häufiger AcP+, DAP+, außerhalb der 2-10 Jahre Altersspanne und präsentierten einen Thymustumor und den Lymphoma Syndrom. Alle 3 DAP IV+ Fälle hatten einen WBC >25000, RI ≥ 3 und AcP+ Blasten. Die 2 Knaben waren pE+ und hatten einen Thymustumor. Die DAP IV-Reaktion erwies sich gegenüber der anderen untersuchten Reaktionen als technisch einfacher und in der Interpretation überlegen in Spezifität und Sensitivität. Die DAP IV-Reaktion kann als ein harter T-Zell-Marker angewendet werden, der darüber hinaus Neoplasien des T-Helferzell-Typs identifizieren kann.

8. LITERATUR

1 **Faber,** S. et al (1948) Temporary remission in acute Leukemia. N. Engl. J. Med 238:787

2 **Lampert,** F. (1982) Childhood Cancer Studies in West-Germany: The first 10 years. Editorial, Klin Pädiat 194:194

3 **Miller,** DR. et al (1983) Prognostic Factors and Therapy in ALL: CCG-141. Cancer 51:1041-1049

4 **George,** SL et al (1979) A reappraisal of the result of stopping therapy in childhood Leukemia. N. Engl. J Med 300:1401

5 **Henze,** G. et al (1981) Treatment Strategy for Different Risk Groups in Childhood ALL: A Report from the BFM-Study Group. Haematology and Blood Transfusion 26:87

6 **Shalet,** S.M. et al (1979): Normal growth despite abnormalities of growth hormone secretion in Children treated for ALL. J. Pediatr. 94:719

7 **Dickinson,** W.P. et al (1978): Differential effects of cranial irradiation on growth hormone response to arginine and insulin infusion. J. Pediatr 92:754

8 **Siris,** E.S. et al (1976): Effects of childhood leukemia and chemotherapy on puberity and reproductive function in girls. New Engl. J. Med 294:1143

9 **Lentz,** R.D. et al (1977): Postpubertal evaluation of gonadal functions following cyclophosphamide before and during puberty. J. Pediatr. 91:385

10 **Shalet,** S.M. et al (1981): Testicular function after combination chemotherapy in childhood for ALL. Arch. Dis. Childh. 56:275

11 **Paylan-Ramu**, N. et al (1978): Abnormal CT scans in asymptomatic children with lymphocytic leukemia after prophylactic treatment of the CNS with radiation and intrathecal chemotherapy. New Engl. J. Med. 298:815

12 **Finlay**, D.B.L. et al (1979): Changes in the skull in ALL of Childhood. Clin. Radiol. 30:413

13 **Price**, R.A. et al (1975): The CNS in childhood leukemia II: Subacute leukoencephalopathy. Cancer 35:306

14 **Price**, R.A. et al (1978): The CNS in childhood leukemia III: Mineralizing microangiopathie and dystrophic Calcification. Cancer 42:717

15 **Freeman**, J.E. et al (1973): Somnolence after prophylactic cranial irradiation in children with ALL. Br. Med. J. 1:523

16 **McIntosh**, S. et al (1976): Chronic neurologic disturbances in Childhood Leukemia. Cancer 37:853

17 **Moss**, H.A. et al (1981): The effects of prophylactic treatment of the CNS on the intellectual functioning of children with ALL. Amer J. Med. 71:47

18 **Eiser**, C. (1980): Effects of chronic illnesses on intellectual development. Arch. Dis. Child. 55:766

19 **Eiser**, C. (1978): Intellectual abilities among survivors of childhood ALL as a function of CNS-irradiation. Arch. Dis. Child. 53:391

20 **Li, F.P.** et al (1975). Risk of second tumors in survivors of childhood cancer. Cancer 35:1230

21 **Woodruff, R.K.** et al (1977): Hodgkins disease occuring during acute Leukemia in remission. Lancet 2:900

22 **Tosato, G.** et al (1978): ALL followed by CML. Blood 52:1033

23 **Ravindranath, Y.** (1978): New leukemia in the course of therapy of ALL. Am. J. Hematol 5:211

24 **Karcher, D.S.** et al (1978): Malignant histiocytosis occuring in patients with ALL. Cancer 41:1967

25 **Gilman, P.A.** et al (1981). Cancer after ALL. Amer J. Dis. Child 135:311

26 **Baum, E.** et al (1979): Relapse Rates following Cessation of Chemotherapy during CR of ALL. Med. Ped. Oncol 7:25-34

27 **Mc George, M.** et al (1982) Immunologic Evaluation of Long-Term Effects in Childhood ALL. Amer. J. Hem 12:19-27

28 MRC Working Party on Leukemia in Children (1976). Brit. J. Haemat 33:179

29 **Rapson, N.T.** et al (1980):Immunosuppression and Serious Infections in Children with ALL: A comparison of Three Chemotherapy Regimes. Brit. J. Haemat. 45:41

30 **Layward, L.** et al (1981): Long-term abnormalities in T and B lymphocyte function in children following treatment for ALL. Brit. J. Haemat. 49:251

31 **Ninane, J.** et al (1981): Serious infections during continuing treatment of ALL. Arch. Dis. Childh. 56:841

32 **Eife,** R. (1978): Krankheits- und therapiebedingten Immunstörungen bei der ALL des Kindesalters. Klin. Pädiat. 190:28

33 **Giller,** RH. et al (1983): Reduced cellular Immunity to Varicella Zoster Virus during Treatment for ALL: Possible Mechanism. Ped. Res. 17:891

34 **Sigal,** NH. et al (1983): Cellular Basis of Hypogammaglobulinemia in Patients with Leukemia in Remission on Maintenance Chemotherapy. Ped. Res. 17:1037

35 **Baumer,** JH. et al (1978): Sex and prognosis in ALL. Lancet ii:128

36 **Sather,** H. et al (1981): Disappearance of predictive value of prognostic variables in childhood ALL. Cancer 48:370

37 **Frei,** E. et al (1978): ALL treatment. Cancer 42:828

38 **Greaves,** MF. et al (1974): T and B lymphocytes: Origins properties and role in immune response. Exerpta Medica, Amsterdam

39 **Mathé,** G. et al (1971): Subdivision of classical varieties of ALL: Correlation with prognosis and cure expectancy. Eur. J. Clin. Biol. Res. 16:554

40 **Mathé,** G. et al (1975): Search for correlation between cytological types and therapeutic sensitivity of acute leukemias. Blood Cells 1:37-52

41 **Mathé,** G. et al (1972): Attempts at immunotherapy of 100 patients with acute lymphoid leukemia: Some factors influencing prognosis. NCI Monographs 35:361-371

42 **Mathé,** G. et al (1973): Classification and subclassification of acute leukemias correlated with clinical expression, therapeutic sensivity and prognosis. RRCR 43:6-20 Springer Verlag, New-York

43 **Jacquillat,** C. et al (1973): Correlation beween cytologic varieties and prognosis in ALL. Proc Am Assoc Cancer Res 14:2

44 **Bernard,** J. et al (1975): Prognostic factors in human acute leukemia. In: Advances in the Biosciences 14 Pergamon Press Oxford 215-224

45 **Flandrin,** G. et al (1975): Cytological classification of acute leukemias. Blood Cells 1:7-15

46 **Pantazopoulos,** N. (1974): Morphological criteria for prognostication of ALL. Brit. J. Haemat. 27:25

47 **Murphy,** S.B. et al (1975): Lack of correlation of lymphoblast cell size with presence of T-Cell markers or with outcome in childhood ALL. Brit. J. Haemat 31:95

48 **Oster,** M.W. et al (1976): Lack of prognostic value of lymphoblast size in ALL. Brit. J. Haem. 33:313

49 **Saunders,** E.F. et al (1967): Variation of proliferative activity in leukemic cell population of patients with acute leukemia. J. Clin. Invst. 46:1356

50 **Hann,** I.M. et al (1979): The prognostic significance of morphological features in childhood ALL. Clin. lab. Haemat. I:215-226

51 **Lee,** S.L. et al (1976): Cytomorphological determinants of prognosis in ALL of children. Sem. Oncol. 3 Suppl. 3:209

52 **Janka**, G.E. et al (1978): Lymphoblast cell size and prognosis in ALL in Childhood. Blut 377:89-94

53 **Shaw**, M.T. et al (1977): Lack of prognostic value of the PAS reaction and blast cell size in childhood ALL. Am J. Haemat. 2:237

54 **Wagner**, V.M. et al (1977): Lack of correlation between blast cell size and length of first remission in ALL in childhood. Med. ped. Oncol 3:373

55 **Scheer**, U. et al (1979): Der prognostische Wert von Zellgrößenmessungen bei akuten kindlichen Leukämien. Klin. Pädiat 191:127-132

56 **Gavosto**, F. et al (1975): Different cell proliferation models. In M. Bessis, G. Brecher eds: Unclassifiable Leukemia, Springer Verlag

57 **Bennet**, J.M. et al (1976): Proposals for the Classification of Acute Leukemias. Brit. J. Haemat. 33:451-458

58 **Miller**, DR. et al (1979): Prognostic significance of Lymphoblast Morphology in Childhood ALL. Proc Am Assoc Clin Oncol 20:345

59 **Keleti**, J. et al (1978): Morphologic diagnosis in acute Leukemia. Br. J. Haemat 40:501

60 **Wagner**, V.M. et al (1979): Correlation of the FAB morphologic criteria and prognosis in ALL of childhood. Am J Pediatr Hematol Oncol 1:103

61 **Viana,** MB. et al (1980): Subclassification of ALL in childhood: Analysis of the reproducibility of morphologic criteria and prognostic implications. Br. J. Haematol 44:383

62 **Wolff,** L.J. et al (1976): Prognosis of children with ALL and increased B-cell markers. J. Pediatr 89:956

63 **Magrath,** I.T. et al (1979): Bone marrow involvement in Burkitt's lymphoma and its relationship to acute B-cell Leukemia. Leuk. Res. 4:33

64 **Coccia,** P.F. et al (1979): Relationship of blast cell surface markers and morphology (FAB-Classification) in childhood ALL. Blood 54:182a

65 **Mc Kenna,** R.W. et al (1979): Cytochemical profiles in ALL. Am J Pediatr. Hematol. Oncol. 1:263

66 **Bennet,** J.M. et al (1981): The Morphological Classification of ALL: Concordance among Observers and Clinical Correlations. Br. J. Haemat. 47:553

67 **van Wering,** E. et al (1981): FAB Classification and Immunulogical Characteristics in 106 Children with Leukemia. In Knapp, W. Ed: Leukemia Markers, Academic Press, New York

68 **Lilleyman,** J.S. et al (1981): Morphological Metamorphosis in Relapsing AL. J. Clin. Path. 34:60

69 **Scarffe,** J.H. et al (1980): The relationship between the pre-treatment activity of bone marrow blast cells measured by flow cytometry and prognosis in ALL of childhood. Brit. J. Cancer 41:769

70 **Knapp,** W. Editor (1981): Leukemia Markers, Academic Press, New York

71 **Blackstock,** R. (1982): Cell surface markers in the characterization of Leukemias. Methods in Cancer Research VOL XIX

72 **Ungeleider,** S. Editor (1981): Conference on cell markers in Acute Leukemia. Cancer Research 41:4751

73 **Thiel,** E. et al (1980): Multimarker Classification of ALL: Evidence for Further T-Subgroups and Evaluation of Their Clinical Significance. Blood 56:759-722

74 **Catovsky,** D. (1979): Acute Leukemias. In: Postgraduate Haematology, London, pp 431-477

75 **Peiper,** S. et al (1982): Markers of Cellular Differentiation in ALL. Arch Pathol Lab Med 106:3-8

76 **Gupta,** S. et al (1980): Markers of Human Lymphocyte Subpopulation in Primary Immunodeficiency and lymphoproliferative Disorders. Seminars in Hematology 17:1-29

77 **Greaves,** M.F. et al (1981): Immunologically defined subclasses of ALL in children: Their relationship to presentation features and prognosis. Br. J. Haemat 48:179

78 **Foon,** K.A. et al (1980): Immunologic Classification of ALL: Implication for Normal Lymphoid Differentiation. Blood 56.1120-1126

79 **Kersey**, J.H. et al (1979): Childhood Leukemia-Lymphoma: Heterogeneity of Phenotypes and Prognoses. Am. J. Clin. Pathol. 72:746-752

80 **Bowman**, W. et al (1980): Cell markers in Lymphomas and Leukemias. Advances in Internal Medicine 25:391-425

81 **Levental**, B.G. et al (1980): Markers in human lymphoid tumors. In: Diagnostic and Developmental Significance, pp 89-113, Clifton N.J.

82 **Netzel**, B. et al (1979): Neuere Aspekte zur Anwendung spezifischer Antiseren bei der Diagnose und Therapie der ALL im Kindesalter. Klin. Pädiat 191:175

83 **Dow**, L.W. et al (1977): Initial prognostic factors and lymphoblast-erythrocyte rosette formation in 109 children with ALL. Blood 50:671

84 **Hann**, H.W.L. et al (1981): Lack of influence of T-Cell marker and Importance of Mediastinal Mass in the Prognosis of ALL of Childhood. JNCI 66:285

85 **Chessels**, J.M. et al (1977): ALL in Children: Classification and Prognosis. Lancet 2:1307

86 **Gadner**, H. et al (1981): Immunological, cytochemical and clinical features in childhood ALL: Influence of therapy on prognosis. Leukemia Markers Academic Press N.Y.

87 **Kersey**, J.H. et al (1978): The nature of childhood leukemia and lymphoma. Am. J. Pathol. 90:487

88 **Heidemann**, R.L. et al (1978): Lymphocytic leukemia in children. J. Pediatr. 92.540

89 **Tsukimoto**, I. et al (1976): Surface markers and prognostic factors in ALL. N. Engl. J. Med. 294:245-248

90 **Paisino**, M. et al (1978): Lymphoid cell surface markers in ALL. Scand. J. Haematol. 20:147-152

91 **Kumar**, S. et al (1979): Prognostic significance of cell surface markers in childhood ALL. Clin. lab. Haemat 1:121-128

92 **Bowman**, W.P. et al (1981): A clinical perspective in ALL. Cancer Res. 41:4794

93 **Boesen**, A.M. et al (1981): Acid Phosphatase Reaction and Immunological Markers in Relation to Clinical Features. Scan. J. Haematol. 27:87

94 **Savage**, R.A. et al (1982): Letter to the Editor. Am. J. Clin. Pathol. 77:376

95 **Lauer**, S.J. et al (1979): Immunodiagnosis of childhood ALL: Problems associated with the use of peripheral blood alone. Med. Ped. Oncol. 6:1577

96 **Perchansky**, L. et al (1982): Sex differences in the prognosis of childhood T-cell leukemia. Med. Ped. Oncol 10:339

97 **Hann**, H.W. et al (1977): Lymphoblast with T-cell markers in 5 girls with ALL. Cancer 39:2001

98 **Greaves**, M.F. (1981): Analysis of clinical and biological significance of lymphoid phenotypes in acute Leukemia. Cancer Res. 41:4752

99 **Laurie**, H.C. et al (1968): Duration of remission in Lymphoblastic Leukemia of Childhood. Br. med. J. 2:95

100 **Vowels**, M.R. et al (1973): Cyclic chemotherapy in ALL of childhood: 5 years survivals. Archives of Disease in Childhood 48:436-440

101 **Feldges**, A.J. et al (1974): PAS reaction, a useful index in duration of complete remission in ALL. Acta Haematologica 52:8-13

102 **Ascari**, E. et al (1975): On the usefulness of PAS reaction for the prognosis of ALL. Haematologica 6:300-307

105 **Catovsky**, D. et al (1979): Cytochemical profile of B and T leukemic lymphocytes with special reference to ALL. J. Clin. Pathol. 27:767-771

106 **Brouet**, J. et al (1976): Immunologic classification of ALL: Evaluation of its clinical significance in a hundred patients. Br. J. Haematol. 33:319-323

107 **Lilleyman**, J.S. et al (1979): PAS reaction and prognosis in Lymphoblastic Leukemia. J. Clin. Pathol. 32:158-161

108 **Humphrey**, G.B. et al (1974): Prognostic value of PAS reaction in ALL. Am. J. Clin. Pathol. 61:393-397

109 **Bennet**, J.M. (1969): Lymphoblastic Leukemia. Br. Med. J. 2:513

110 **Rizzo**, S.C. et al (1977): Prognostic Factors and Treatment Response in ALL of Children and Adults treated with non-aggressive Combination Chemotherapy

111 **Raney**, R.B. et al (1979): The PAS-Reaction and Prognosis in Children with ALL. Am. J. Hemat. 6:27-37

112 **Huhn**, D. et al (1977): Acid Phospatase in ALL. In: Immunological Diagnosis of Leukemias and Lymphomas. Thierfelder, S., Rodt, H. and Thiel, E., Eds. Springer Verlag Berlin, pp 169-170

113 **Ritter**, J. et al (1975): Immunologische Oberflächenmarker von Lymphoblasten bei der saueren Phosphatase-positiven akuten Leukämie. Z. Kinderheil 120:211

114 **Catovsky**, D. et al (1978): Acid-Phosphatase reaction in ALL. Lancet 1:749

115 **Yang**, K. et al (1982): Acid Phosphatase and Alpha-naphtyl Acetate Esterase in Neoplastic and Non-neoplastic Lymphocytes. Am. J. Clin. Pathol. 78:141

116 **Savage**, R.A. et al (1981): Acid Phosphatase Staining Pattern as an Indicator of T-cell Acute Leukemia

117 **Catovsky**, D. et al (1978): Cytochemistry: an aid to the diagnosis and classification of the acute Leukemias. Rec. Res. Ca. Res. 64:108

118 **Telek**, B. et al (1983): Differential Diagnosis Value of Acid Phosphatase and Beta-Glucuronidase in Acute Leukemia. Blut 46:67

119 **Andrewa**, P. (1978): Comparison of enzyme-cytochemical findings and immunological marker investigations in ALL. Blut 36:299

120 **Huhn,** D. et al (1981): Cytochemistry and membrane markers in ALL. Scan. J. Haematol. 26:311

121 **Søndergaard-Petersen,** H. et al (1979): Three different AcP patterns in leukemic lymphoid T-Cells. Scan. J. Haematol. 23:51

122 **Armitage,** R.J. et al (1982): The morphology and cytochemistry of T-cell subpopulations defined by monclonal antibodies and Fc-receptors. Br. J. Haematol 51:605

123 **Bernard,** J. et al (1983): Cytochemistry of Human Lymphocyte subpopulations delineated by monoclonal antibodies. Brit. J. Haematol. 53:351

124 **Dehner,** L.P. et al (1979): Cytochemical profiles in ALL. Am. J. Ped. Hem. Oncol. 3:263

125 **Smithson,** W.A. et al (1979): ALL in Children: Immunologic, Morphologic, and Cytogenetic Studies in Relation to Pretreatment Risk Factors. Med. Ped. Oncol. 7:83

126 **Wehinger,** H. et al (1976): Cytochemical studies on B and T lymphocytes and lymphoblasts with special reference to AcP. Acta Haematol 56:129

127 **Callihan,** T.R. et al (1978): Correlation between cytochemistry and cell surface markers in ALL. Blood 52:283

128 **Kalwinsky,** D. (1979): Utility of AcP cytochemistry in identifying T-cell ALL. Blood 54:190a

129 **Basso,** G. et al (1980): Cytochemical study of thymocytes and T-Lymphocytes. Brit. J. Haematol. 44:577

130 **Riehm**, H. et al (1977): Die West-Berliner Studie zur Behandlung der ALL des Kindes - Erfahrungsbericht nach 6 Jahren. Klin. Pädiat. 189:89

131 **Riehm**, H. et al (1980): The Berlin childhood ALL-Therapy study, 1970-1976. Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 2:299

132 **Schellong**, G. et al (1978): Intensivierung der Anfangstherapie nach dem West-Berliner Protokoll bei der ALL. Klin. Pädiat. 190:65

133 **Welte**, K. (1977): The West-Berlin ALL-Study. Prognosis in children with high risk for relapse factors at diagnosis. Intern. Symp. on therapy of acute Leukemias, Rom 1977

134 **Henze**, G. et al (1979): The probability of childhood T-ALL based on clinical parameters: Influence of therapy on prognosis. J. Pediatr. 130:209

135 **Henze**, G. et al (1980): Datenverarbeitung in der pädiatrischen Onkologie: Die Organisation der multizentrischen Studie BFM zur Behandlung der ALL im Kindesalter. Wiss. Inform. Heft 2 Milupa, Friedrichsdorf.

136 **Henze**, G. et al (1982): Ergebnisse der Studie BFM 76/79 zur Behandlung der ALL bei Kindern und Jugendlichen. Klin. Pädiat. 193:145-154

137 **Henze**, G. et al (1982): Therapiestudie BFM 79/81 zur Behandlung der ALL bei Kindern und Jugendlichen: intensivierter Reinduktionstherapie für Patienten mit unterschiedlichem Rezidivrisiko. Klin. Pädiat. 194:195-203

138 **Riehm,** H. et al (1980): BFM Study Therapy Results in Childhood ALL and NHL: A One Decade's experience in 388 Patients.

139 **Riehm,** H. et al (1980): The BFM Study 1970-79 in childhood ALL. Arch Dis. Child 55:735

140 **Langermann,** H.J. et al (1982): Abschätzung der Tumorzellmasse bei der ALL im Kindesalter: prognostische Bedeutung und praktische Anwendung. Klin. Pädiat. 194-209

141 **Gadner,** H. et al (1981): Immunological, cytochemical and clinical features in ALL: Influence of therapy on prognosis. In, W. Knapp, Ed.: Leukemia markers. Academic Press, New York.

142 **Sallan,** S.E. et al (1980): Cell surface Antigens: Prognostic Implications in Childhood ALL. Blood 55:395

143 **Robinson,** L.L. et al (1980): Assessment of the interrelationship of prognostic factors in childhood ALL. Am. J. Ped. Hem/Oncol 2:5

144 **Miller,** D.R. et al (1983): Prognostic Factors and Therapy in ALL of Childhood: CCG 141. Cancer 51:1041

145 **Palmer,** M.K. et al (1980): A score at Diagnosis for Predicting length of Remission in Childhood ALL. Br. J. Cancer 42:841

146 **Stryckmans,** P. et al (1982): Scientific Basis and Criticism of Current Therapy of Acute Leukemia. Blood Cells 8:603

147 **Hopsu-Havu,** V.K. et al (1966)): A new dipeptide-naphtylamidase hydrolysing glycyl-prolyl-β-naphtylamide. Histochemistry 7:197

148 **Loyda**, Z. (1977): Studies on glycyl-proline naphtylamidase: I. Lymphocytes Histochemistry 54:299

149 **Grossau**, R. (1979): Peptidasen II: Zur Lokalisation der DPP IV. Histochemische und biochemische Untersuchungen. Histochemistry 60:231

150 **Feller**, A.C. et al (1980): Zytochemische Darstellung der Blasten bei akuter T-lymphoblastischer Leukämie mit Hilfe der DAP IV. Klin. Pädiat. 192:150

151 **Schwarze**, E.W. et al (1981): Die lymphoblastischen Lymphome des Kindesalters. Ihre Erkennbarkeit als T oder B-Zellneoplasien im histologischen Präparat. Klin. Pädiat 193-131

152 **Connover**, W.J. (1971): Pratical Statistics. John Wiley & Sons Inc. New York

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

> Analyse der Wechselbeziehungen der prognostischen Faktoren bei der kindlichen ALL unter besonderer Berücksichtigung der DAP IV-Reaktion

unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. B. Kornhuber ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher in keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt, den 5. Oktober 1983

Lebenslauf

- 5.7.1951	Geboren als Sohn des Ehepaares Mascha und Mordechai Peleg in Tel-Aviv
-	Schulen in Israel und England
- 1976-1982	Medizinstudium in Giessen und Frankfurt
- 1978	Ärztliche Vorprüfung
- 1979	1. Abschnitt des Staatsexamens
- 1981	2. Abschnitt des Staatsexamens
- 1981/82	Praktisches Jahr im Stadtkrankenhaus Offenbach
- 12.10.1982	3. Abschnitt des Staatsexamens
- 24.12.1982	Approbatio als Arzt
- Seit Januar	1981 Investigator im Evans County Heart Research Project, USA